



## DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS (PCT)

(51) Classification internationale des brevets <sup>6</sup> : <b>C08G 63/66, 63/00, A61K 47/34</b>		A1	(11) Numéro de publication internationale: <b>WO 97/19973</b>  (43) Date de publication internationale: <b>5 juin 1997 (05.06.97)</b>
<p>(21) Numéro de la demande internationale: <b>PCT/FR96/01901</b></p> <p>(22) Date de dépôt international: <b>29 novembre 1996 (29.11.96)</b></p> <p>(30) Données relatives à la priorité: 95/14144 29 novembre 1995 (29.11.95) FR</p> <p>(71) Déposant (<i>pour tous les Etats désignés sauf US</i>): CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE (CNRS) [FR/FR]; 3, rue Michel-Ange, F-75016 Paris (FR).</p> <p>(72) Inventeurs; et</p> <p>(75) Inventeurs/Déposants (<i>US seulement</i>): VERT, Michel [FR/FR]; 8, rue du Maréchal-Lefebvre, F-34170 Castelnau-le-Lez (FR). LI, Suming [CN/FR]; Lotissement Les Tribuns, 15, avenue de Vénus, F-34170 Castelnau-le-Lez (FR). RASHKOV, Iliya [BG/BG]; Blok 19 et 6, Appartement 36, Complex Banichora, 1303 Sofia (BG). ESPARTERO-SANCHEZ, José-Luis [ES/ES]; Avenida Cruz del Campo, 2, E-41005 Séville (ES).</p> <p>(74) Mandataire: TONNELLIER, Jean-Claude; Nony &amp; Associés, 29, rue Cambacérès, F-75008 Paris (FR).</p>		<p>(81) Etats désignés: JP, US, brevet européen (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).</p> <p><b>Publiée</b> Avec rapport de recherche internationale. Avant l'expiration du délai prévu pour la modification des revendications, sera republiée si de telles modifications sont reçues.</p>	
<p>(54) Title: NOVEL HYDROGELS CONTAINING TRIBLOCK COPOLYMERS, AND PREPARATION AND USE THEREOF</p> <p>(54) Titre: NOUVEAUX HYDROGELS A BASE DE COPOLYMERES TRISEQUENCES, LEUR PREPARATION ET LEUR APPLICATION</p> <p>(57) Abstract</p> <p>A soft hydrogel containing a triblock copolymer and water is disclosed. The copolymer has formula (I): X-G-Y, wherein G is a non-hydroxylated hydrophilic linear polymer block containing p repetitive units, where p is a number from 10 to 150, each of X and Y is a polyester block containing m and n repetitive units, respectively, and the ratio (m + n)/p is high enough for said copolymer to be water-insoluble, said ratio (m + n)/p being selected in such a way that adding water to a solution of the copolymer in a water-miscible organic solvent leads to the formation of a soft hydrogel capable of retaining an amount of water at least as great as the weight of said copolymer. Said hydrogel is suitable for retaining and gradually releasing hydrophobic substances and/or hydrophilic macromolecules, including drugs.</p> <p>(57) Abrégé</p> <p>Hydrogel mou à base de copolymère triséquencé et d'eau. Le copolymère répond à la formule (I): X-G-Y, dans laquelle G est un bloc polymère linéaire hydrophile non hydroxylé contenant p motifs répétitifs, p étant un nombre pouvant varier de 10 à 150, X et Y représentent chacun un bloc polyester contenant respectivement m et n motifs répétitifs, le rapport (m + n)/p étant suffisamment élevé pour que ledit copolymère soit insoluble dans l'eau, et ledit rapport (m + n)/p étant choisi tel que l'addition d'eau à une solution de copolymère dans un solvant organique miscible à l'eau provoque la formation d'un hydrogel mou capable de retenir une quantité d'eau au moins égale au poids dudit copolymère. Cet hydrogel peut retenir et libérer progressivement des substances hydrophobes et/ou des macromolécules hydrophiles, y compris des médicaments.</p>			

**UNIQUEMENT A TITRE D'INFORMATION**

Codes utilisés pour identifier les Etats parties au PCT, sur les pages de couverture des brochures publant des demandes internationales en vertu du PCT.

AT	Arménie	GB	Royaume-Uni	MW	Malawi
AT	Autriche	GE	Géorgie	MX	Mexique
AU	Australie	GN	Guinée	NE	Niger
BB	Barbade	GR	Grèce	NL	Pays-Bas
BE	Belgique	HU	Hongrie	NO	Norvège
BF	Burkina Faso	IE	Irlande	NZ	Nouvelle-Zélande
BG	Bulgarie	IT	Italie	PL	Pologne
BJ	Bénin	JP	Japon	PT	Portugal
BR	Brésil	KE	Kenya	RO	Roumanie
BY	Bélarus	KG	Kirghizistan	RU	Fédération de Russie
CA	Canada	KP	République populaire démocratique de Corée	SD	Soudan
CF	République centrafricaine	KR	République de Corée	SE	Suède
CG	Congo	KZ	Kazakhstan	SG	Singapour
CH	Suisse	LI	Liechtenstein	SI	Slovénie
CI	Côte d'Ivoire	LK	Sri Lanka	SK	Slovaquie
CM	Cameroun	LR	Liberia	SN	Sénégal
CN	Chine	LT	Lituanie	SZ	Swaziland
CS	Tchécoslovaquie	LU	Luxembourg	TD	Tchad
CZ	République tchèque	LV	Lettonie	TG	Togo
DE	Allemagne	MC	Monaco	TJ	Tadjikistan
DK	Danemark	MD	République de Moldova	TT	Trinité-et-Tobago
EE	Estonie	MG	Madagascar	UA	Ukraine
ES	Espagne	ML	Mali	UG	Ouganda
FI	Finlande	MN	Mongolie	US	Etats-Unis d'Amérique
FR	France	MR	Mauritanie	UZ	Ouzbékistan
GA	Gabon			VN	Viet Nam

Nouveaux hydrogels à base de copolymères triséquencés,  
leur préparation et leur application.

L'invention a pour objet de nouveaux hydrogels à  
5 base de copolymère triséquencé, leur préparation et leur  
application.

On sait que les hydrogels sont obtenus classiquement  
avec des matériaux solides qui gonflent dans l'eau en  
absorbant des volumes d'eau notables. Les hydrogels sont  
10 généralement constitués par des polymères formant dans l'eau  
un réseau tridimensionnel capable de retenir notamment des  
grosses molécules telles que des protéines. Les hydrogels  
peuvent être préparés à partir de polymères hydrophiles  
réticulés.

15 Les hydrogels ont été préconisés notamment comme  
supports pharmaceutiques implantables permettant la libéra-  
tion progressive de drogues, et en particulier de macromo-  
lécules telles que des protéines. Les hydrogels sont  
généralement non biodégradables et la drogue est libérée par  
20 un phénomène de diffusion.

Il a été proposé récemment de réaliser des hydrogels  
biodégradables à base de copolymères triséquencés  
poly(hydroxyacide)-poly(éthylèneglycol)-poly(hydroxyacide) en  
utilisant des copolymères solubles dans l'eau, à terminaisons  
25 acrylate, que l'on réticule *in situ* par photopolymérisation  
de solutions aqueuses du polymère ; voir A.S. Sawhney et al.,  
Macromolecules 26, 581-587 (1993).

Le document EP-A-0092918 décrit des implants rigides  
constitués par des copolymères séquencés non réticulés, et  
30 contenant un polypeptide ayant une activité pharmacologique.  
Ces implants gonflent progressivement en absorbant de l'eau  
présente dans le milieu vivant où ils sont implantés.

On a maintenant découvert un nouveau procédé permettant, au départ de certains copolymères triséquencés, l'obtention très rapide d'hydrogels mous contenant un poids d'eau au moins égal au poids de copolymère triséquencé. Ces 5 hydrogels mous sont facilement déformables et peuvent notamment transiter à travers une aiguille creuse ayant un diamètre interne de 2 mm, et en particulier à travers une aiguille creuse de 1 mm de diamètre interne.

Alors que les hydrogels étaient principalement 10 utilisés jusqu'à présent pour le piégeage et la libération progressive de macromolécules hydrophiles, les hydrogels de la présente invention présentent la particularité de pouvoir retenir non seulement des macromolécules hydrophiles, mais aussi des substances hydrophobes.

15 L'invention a donc pour objet un hydrogel à base de copolymère triséquencé et d'eau, caractérisé par le fait qu'il se présente sous la forme d'un hydrogel mou contenant une quantité d'eau au moins égale, en poids, à celle du copolymère et que ledit copolymère répond à la formule (I) :

20 X-G-Y (I)

dans laquelle G est un bloc polymère linéaire hydrophile non hydroxylé contenant p motifs répétitifs, p étant un nombre pouvant varier de 10 à 150,

25 X et Y représentent chacun un bloc polyester contenant respectivement m et n motifs répétitifs,

le rapport  $(m + n)/p$  étant suffisamment élevé pour que ledit copolymère soit insoluble dans l'eau, et ledit rapport  $(m + n)/p$  étant choisi tel que l'addition d'eau à une solution du copolymère dans un solvant organique miscible à 30 l'eau provoque la formation d'un hydrogel mou capable de retenir une quantité d'eau au moins égale au poids dudit

copolymère.

L'invention concerne également un produit obtenu par lyophilisation d'un hydrogel tel que défini ci-dessus. Un tel lyophilisat est capable d'absorber rapidement une forte proportion d'eau et de redonner un hydrogel mou gonflé d'eau, analogue à l'hydrogel dont il est issu.

Les rapports  $(m + n)/p$  qui conviennent peuvent être déterminés dans chaque cas par des expériences de routine, comme cela sera précisé ci-après. Généralement, les rapports  $(m + n)/p$  convenables sont des nombres compris entre 1 et 5 environ.

En particulier, le rapport  $(m + n)/p$  peut être choisi pour que ledit gel soit capable de retenir une quantité d'eau au moins égale à deux fois le poids de copolymère qu'il contient.

Le nombre  $p$  peut varier notamment de 10 à 120 et en particulier de 15 à 100.

Bien entendu, les blocs X et Y peuvent être semblables, c'est-à-dire composés des mêmes motifs répétitifs.

L'étude des copolymères analogues à ceux de formule (I) montre que lorsque le rapport  $(m + n)/p$  est suffisamment faible, les copolymères sont solubles dans l'eau. Lorsque ledit rapport augmente, les copolymères correspondants ne sont que faiblement solubles dans l'eau, et donnent des solutions troubles dues vraisemblablement à la formation de micelles. Lorsque ledit rapport augmente encore, les polymères deviennent insolubles dans l'eau : mis au contact de l'eau, les polymères, sous forme de poudres, ne passent pas en solution et ne donnent pas lieu non plus à la formation de micelles, par exemple après 24 heures de contact avec l'eau à température ambiante, même si les copolymères peuvent gonfler légèrement au contact de l'eau.

Conformément à la découverte qui est à la base de l'invention, de tels copolymères insolubles dans l'eau peuvent donner des hydrogels à partir de leur solution dans un solvant organique miscible à l'eau, selon la méthode 5 indiquée ci-dessus. Toutefois, lorsque la longueur des chaînons hydrophobes X et Y, pour un même bloc central G, augmente (autrement dit lorsque le rapport  $(m + n)/p$  augmente) au-delà d'une certaine valeur, les hydrogels ainsi obtenus renferment des quantités d'eau de plus en plus 10 faibles. Il est donc facile de déterminer expérimentalement, pour chaque type de polymère de formule (I), la valeur du rapport  $(m + n)/p$  au-delà de laquelle les hydrogels ne sont plus capables de retenir une masse importante d'eau : en fait, avec de tels polymères en solution dans le solvant 15 organique miscible à l'eau, on n'observe pas, par addition d'eau, la formation d'un hydrogel gonflé d'eau mais plutôt la formation d'un précipité du copolymère qui occupe un volume inférieur à celui de la solution organique de départ.

On peut donc déterminer la longueur optimale des 20 chaînes X et Y par de simples expériences de routine.

Par exemple, dans le cas des copolymères poly(acide lactique)-poly(oxyde d'éthylène)-poly(acide lactique), on observe que lorsque le rapport  $(m + n)/p$  est inférieur à 0,2 environ, les copolymères sont solubles dans l'eau. Lorsque 25 ledit rapport est compris entre 0,2 et 1 environ, les copolymères ne sont que faiblement solubles dans l'eau et donnent des solutions troubles. Lorsque ledit rapport est supérieur à 1 environ, les copolymères sont insolubles dans l'eau. Avec ces derniers copolymères, on peut obtenir, au départ d'une 30 solution organique du copolymère, des hydrogels capables de retenir une quantité appréciable d'eau, lorsque le rapport  $(m + n)/p$  est compris entre 1 et 5, et en particulier entre 1

et 4 environ. On obtient des hydrogels particulièrement satisfaisants notamment lorsque ce rapport varie dans la gamme de 1,5 à 3 environ. Les nombres m et n sont donc tels que le rapport  $(m + n)/p$  est supérieur à 1 et inférieur à une valeur maximum au-delà de laquelle ledit copolymère n'est plus apte à former un hydrogel capable, dans les conditions indiquées ci-dessus, de retenir un poids d'eau au moins égal au poids dudit copolymère.

On donnera ci-après d'autres précisions à ce sujet 10 en décrivant la préparation des hydrogels.

Les blocs polymères que représentent X et Y, dans la formule (I), sont des blocs polyesters linéaires hydrophobes. Ce sont notamment des polyesters aliphatiques.

On sait que les polyesters aliphatiques peuvent être 15 obtenus :

a) soit par polycondensation d'un hydroxyacide sur lui-même, ou par polycondensation de plusieurs hydroxyacides,

b) soit par polymérisation par ouverture de cycle de lactones,

20 c) soit encore par polycondensation de diacides et de diols.

Parmi les polyesters dérivés d'hydroxyacides, on peut citer notamment ceux qui dérivent des monomères choisis 25 parmi l'acide lactique, l'acide glycolique, les monoesters d'acide malique (par exemple des monoesters d'alkyle ou d'aralkyle, ou encore des monoesters résultant de la monoestérification de l'acide malique par un principe actif hydroxylé, notamment un principe actif hydrophobe ; voir par exemple les brevets US 4 320 753 et 4 265 247), les lactides 30 (D-lactide, L-lactide et D,L-lactide), le glycolide, la para-dioxanone, etc. Les blocs polymères représentés par X et Y

peuvent également être des copolymères formés par lesdits monomères entre eux.

Parmi les polymères dérivés de diacides et de diols, on peut citer par exemple le poly(succinate d'éthylène-glycol).

Le bloc polymère représenté par G dans la formule (I) est un polymère hydrophile qui peut être choisi par exemple parmi les suivants : poly(éthylèneglycol), polyvinyl pyrrolidone, polyacrylamide, etc.

10 Les copolymères séquencés de formule (I) sont connus ou peuvent être préparés de façon connue.

On peut effectuer la polymérisation conduisant à la formation des chaînons X et Y en présence du polymère G préformé et ayant des extrémités convenablement fonctionnalisées. Par exemple, on a déjà décrit l'obtention de copolymères séquencés à base de poly(hydroxyacides) et de polyéthylèneglycol ; voir notamment P. Cerrai et al., Journal of Materials Science : Materials in Medicine 5(1994) 308-313 et la demande de brevet EP-295 055. Les produits de départ 20 sont d'une part le lactide et d'autre part le polyéthylène-glycol. On opère de préférence par polymérisation en masse en présence d'un catalyseur qui peut être un métal, un composé organo-métallique ou un acide de Lewis. Parmi les catalyseurs utilisés, on peut citer la poudre de zinc, l'hydrure de 25 calcium, l'hydrure de sodium, l'octanoate d'étain, etc. La longueur des chaînes poly(hydroxyacide) dépend essentiellement du rapport molaire (motifs lactiques)/(PEG) dans le mélange initial. La longueur des chaînes poly(hydroxyacide) croît également avec la durée de la réaction qui peut aller 30 par exemple de quelques minutes à quelques jours.

En utilisant des blocs polymères de type G aux extrémités fonctionnalisées, portant par exemple des groupes

terminaux hydroxyle, acide carboxylique, amino, thiol, etc., il est possible d'obtenir des copolymères séquencés, répondant à la formule (I) ci-dessus, dans lesquels la jonction entre X et G et entre Y et G se fait par 5 l'intermédiaire d'un groupement ester, amide, uréthane, thioester, etc.

Les copolymères de formule (I) peuvent également être préparés à partir de blocs polymères préformés, en utilisant un polymère de type G dont les deux extrémités 10 sont, de façon connue, convenablement fonctionnalisées, et des polymères de type X et Y ayant une seule extrémité fonctionnalisée de façon à pouvoir réagir avec une extrémité fonctionnalisée de G, avec établissement d'une liaison covalente.

15 Les hydrogels de l'invention forment un réseau tridimensionnel de chaînes hydrophiles (G) reliées par des microdomaines hydrophobes constituées par agrégation de chaînons poly(hydroxyacide) (X et Y). Il en résulte une réticulation physique des chaînes hydrophiles. Les 20 microdomaines hydrophobes formés par les agrégats de chaînons X et Y sont analogues à des nanoparticules qui présentent la particularité de ne pas être libres et indépendantes, car elles font partie du réseau tridimensionnel formé par le copolymère dans l'hydrogel. Ces sortes de nanoparticules sont 25 capables de solubiliser et donc de retenir des substances hydrophobes, par exemple des médicaments.

Les hydrogels de l'invention peuvent également retenir dans leur réseau tridimensionnel des macromolécules hydrosolubles, telles que des protéines, qui peuvent être par 30 exemple, des médicaments.

Par exemple, on a incorporé dans des hydrogels selon l'invention d'autres protéines (notamment des immunoglobu-

lines) et des conjugués protéine-antigène dont la protéine était l'anatoxine tétanique et les antigènes étaient soit des polyosides ou fragments de polyosides de *Streptococcus pneumoniae*, soit des polyosides ou fragments de polyosides de 5 *Salmonella typhi*.

Les hydrogels de l'invention sont des gels évolutifs, progressivement dégradés par des réactions d'hydrolyse qui clivent, de façon aléatoire, des groupements esters des blocs X et Y. Les produits d'hydrolyse des blocs X 10 et Y restent d'abord incorporés dans les agrégats hydrophobes formés lors de la préparation de l'hydrogel. Lorsque l'hydrogel est au contact d'un milieu aqueux, cette hydrolyse entraîne la libération progressive, par solubilisation dans le milieu aqueux, de polymères formés de chaînons G éventuellement liés à des blocs poly(hydroxyacide) suffisamment courts, de tels polymères étant solubles dans l'eau. Il en 15 résulte une désagrégation progressive de l'hydrogel, qui se produit au contact du milieu aqueux, et qui peut s'accompagner de la libération dans ledit milieu d'une partie des 20 macromolécules hydrophiles, des fragments courts provenant de la dégradation de X et Y, et des substances hydrophobes éventuellement encore présentes dans l'hydrogel.

L'invention concerne également un procédé de préparation d'un hydrogel tel que défini précédemment. Ce 25 procédé est principalement caractérisée par le fait que l'on prépare une solution d'un copolymère X-G-Y tel que défini précédemment, dans un solvant organique miscible à l'eau, puis on met en contact cette solution avec une quantité suffisante d'eau pour former un hydrogel mou. Cet hydrogel 30 mou est gonflé de liquide (solvant organique et eau). Pour éliminer le solvant organique, on peut ensuite laver l'hydrogel à l'eau et/ou le soumettre à une dialyse contre de

l'eau et/ou le lyophiliser.

Pour mettre en contact la solution organique avec l'eau, on peut soit verser la solution organique dans l'eau soit verser de l'eau dans la solution organique.

5 Pour préparer les hydrogels de l'invention, on peut notamment opérer de la façon suivante : on dissout le copolymère dans un solvant organique miscible à l'eau, puis on ajoute ensuite de l'eau de façon à obtenir la formation d'un gel mou.

10 L'addition d'eau peut être faite en une seule fois, ou de façon progressive, mais cependant pas trop lente pour éviter d'obtenir un hydrogel dispersé et manquant de cohésion. En fait la vitesse d'addition de l'eau (ou la vitesse d'addition du solvant organique dans l'eau quand on 15 choisit cette autre méthode) qui convient dans chaque cas peut être déterminée au préalable par de simples expériences de routine.

Le solvant miscible à l'eau doit être un bon solvant des deux types de séquences X, Y d'une part et G d'autre 20 part. Parmi les solvants utilisables on peut utiliser l'acétone, le dioxane, le tétrahydrofurane, le diméthylformamide, le diméthylsulfoxyde.

On peut éliminer le solvant organique qui est présent, de même que l'eau, dans l'hydrogel obtenu, par 25 lavages répétés à l'eau, ou par dialyse. La lyophilisation permet d'éliminer à la fois le solvant organique et l'eau.

Les hydrogels de l'invention sont notamment ceux qui sont préparés par le procédé qui vient d'être indiqué.

Pour incorporer une macromolécule hydrophile dans un 30 hydrogel selon l'invention, on peut remplacer l'eau, dans le procédé qui vient d'être décrit, par une solution aqueuse de ladite macromolécule.

De même, pour incorporer une substance hydrophobe dans les hydrogels de l'invention, on peut remplacer, dans le procédé qui vient d'être décrit, le solvant organique soluble dans l'eau par une solution de la substance hydrophobe dans 5 ledit solvant organique.

Pour sélectionner les copolymères capables de donner des hydrogels retenant une proportion suffisante d'eau, on peut par exemple opérer de la façon suivante : on dissout 200 mg du copolymère dans un volume pouvant aller de 0,4 à 10 0,8 cm<sup>3</sup> de l'un des solvants organiques indiqués, par exemple l'acétone. On ajoute progressivement 4 cm<sup>3</sup> d'eau de façon à former un hydrogel. On sélectionne par exemple les hydrogels qui, après élimination du liquide en excès, ont une masse au moins égale à 0,4 g.

15 Les hydrogels de l'invention peuvent libérer progressivement, notamment sous l'effet de la dégradation des chaînons X et Y (comme indiqué ci-dessus), les substances hydrophobes qui s'y trouvent solubilisées.

Par ailleurs, les hydrogels de l'invention 20 présentent la particularité d'être biodégradables et bio-résorbables. Des études de dégradation de ces copolymères triséquencés ont montré que les chaînes polyesters sont progressivement dégradées par hydrolyse, les produits finals étant les hydroxyacides (ou diacides et diols) correspondants 25 qui sont biorésorbables.

Cette hydrolyse des chaînes polyesters, lorsqu'elle se poursuit, libère finalement le polymère hydrophile G formant le bloc central du copolymère triséquencé. On sait que de tels polymères de masse moléculaire relativement 30 faible (inférieure à 10000), sont biorésorbables : ils sont éliminés par les reins.

Les polymères G mentionnés et les monomères consti-

tuant les chaînes X et Y des copolymères triséquencés qui forment les hydrogels de la présente demande sont des composés biodégradables ou biorésorbables non toxiques bien tolérés par l'organisme.

5 Les hydrogels peuvent donc être utilisés notamment comme compositions pharmaceutiques permettant notamment de libérer progressivement les médicaments qu'elles renferment. De telles compositions s'avèrent particulièrement intéressantes dans le cas de principes actifs réputés 10 insolubles dans l'eau. Les compositions de l'invention peuvent également être utilisées pour libérer progressivement des principes actifs hydrophiles, et en particulier des macromolécules hydrophiles, comme mentionné plus haut.

15 Parmi les substances hydrophobes qui peuvent être incorporées dans les hydrogels de l'invention on citera notamment : des hormones, en particulier des hormones stéroïdes (par exemple progestérone, estradiol, norgestrel, noréthistérone, testostérone, hydrocortisone, prednisolone, dexaméthasone), d'autres hormones (par exemple prostaglandines, insuline, etc.), des antibiotiques ou des antiparasitaires (par exemple griséofulvine, érythromycine, quinazoline et ses dérivés) des agents anticancéreux (par exemple nitrosourées, fluorouracile, azathioprine, doxorubicine, bléomycine, cis-platine, mitomycine) des anesthésiques ou des 20 sédatifs (par exemple tétracaine, chloropromazine, diazépam, méthadone, naltrexone), ou d'autres principes actifs tels que la théophylline, la caféine, la quinidine, ou encore des peptides (notamment la vasopressine).

25 On peut également incorporer dans les hydrogels de l'invention des immunogènes (notamment des protéines ou des conjugués protéine-antigène, par exemple des conjugués antigène-anatoxine tétanique, obtenus de façon connue en soi)

et éventuellement des adjuvants. De tels gels sont utilisables comme agents vaccinants qui présentent l'avantage que, du fait de la libération progressive de l'immunogène, l'organisme se trouve plus longtemps au contact de celui-ci.

5 Les compositions pharmaceutiques de l'invention sont utilisables dans des procédés de traitement thérapeutique comprenant leur administration notamment par voie orale ou rectale. L'hydrogel ou le lyophilisat correspondant peut être encapsulé dans un matériau capable de se désagréger par 10 fusion, ramollissement ou dissolution au contact du corps ou des fluides corporels. Ces compositions peuvent aussi être administrées sous la forme d'implants mous, notamment par injection.

15 Comme indiqué ci-dessus, les hydrogels selon l'invention sont des produits mous, qui peuvent avoir une forme propre, mais qui sont alors aisément déformables, par exemple sous la pression d'un doigt, comme les hydrogels bien connus formés par la gélatine ou le tapioca. Les hydrogels de l'invention et les compositions les contenant sont notamment 20 des hydrogels suffisamment déformables pour pouvoir transiter à travers une aiguille creuse ayant par exemple 2 mm, ou même 1 mm, de diamètre intérieur.

25 Les hydrogels de l'invention peuvent aussi servir de support implantable et biorésorbable destiné à favoriser la régénération du parodonte selon la technique de régénération tissulaire et guidée (par exemple à la place des membranes décrites dans le document WO 93/24097).

30 Les hydrogels peuvent être stérilisés notamment par irradiation UV, mais il est généralement préférable de les préparer dans des conditions stériles.

On peut également incorporer dans les hydrogels de l'invention des substances colorantes, des substances aroma-

tiques, des insecticides, etc.

Les hydrogels de l'invention peuvent être utilisés notamment comme supports pour la diffusion prolongée de parfums, d'arômes, d'insecticides.

5 Il est également possible d'incorporer dans les hydrogels de l'invention une ou plusieurs substances hydrophobes servant à moduler la stabilité des agrégats formant les microdomaines hydrophobes. On peut ajouter par exemple des oligomères obtenus à partir des mêmes monomères 10 que ceux constituant les blocs X et Y de la formule (I).

L'invention a également pour objet un procédé pour le piégeage d'une substance hydrophobe dans un hydrogel, caractérisé par le fait que l'on prépare une solution d'une substance hydrophobe et d'un polymère triséquencé, tel que 15 défini précédemment, dans un solvant organique miscible à l'eau qui est un solvant pour ladite substance hydrophobe et pour le copolymère, puis on met en contact ladite solution avec de l'eau pour obtenir un hydrogel qui est capable de retenir ladite substance hydrophobe. On peut opérer comme 20 déjà décrit précédemment. Le solvant organique est choisi parmi ceux mentionnés ci-dessus.

L'invention concerne également un procédé de piégeage d'une macromolécule hydrophile dans un hydrogel, caractérisé par le fait que l'on prépare une solution 25 contenant un copolymère triséquencé tel que défini ci-dessus, dans un solvant organique miscible à l'eau, puis que l'on met en contact ladite solution avec une solution aqueuse de ladite macromolécule, pour obtenir un hydrogel capable de retenir ladite macromolécule. On peut opérer comme déjà 30 décrit précédemment.

L'invention s'étend bien entendu aux hydrogels, tels que définis ci-dessus, dans lesquels est solubilisée au moins

une substance hydrophobe et/ou une macromolécule hydrophile.

La vitesse de dégradation des copolymères formant les hydrogels de l'invention dépend en partie du caractère plus ou moins amorphe ou cristallisé des chaînons X et Y. On sait qu'il est possible de contrôler en partie le caractère amorphe ou cristallin de tels chaînons. Par exemple, l'obtention de chaînons X et Y au départ de lactide racémique (au lieu d'un énantiomère) favorise l'obtention de chaînons amorphes ; par ailleurs, on sait que la cristallinité des chaînons X et Y augmente avec la longueur de ces chaînons ; voir notamment P. CERRAI et al., article cité ci-dessus. On peut donc régler en conséquence la vitesse de dégradation.

Les exemples suivants illustrent l'invention.

15

#### EXEMPLES

Exemple 1 : Préparation de copolymères

20 1.1. On mélange dans un ballon 0,4 mole de D,L-lactide (origine : Purac, Pays-Bas) avec 0,4 mole (en motifs répétitifs oxyéthylène) de PEG 2000 (Fluka, Suisse) et 37,6 mg (0,05 % du poids total des réactifs) de poudre de zinc (Merck, Allemagne). Le PEG 2000 a été préalablement 25 purifié par dissolution dans le chloroforme et précipitation dans le diéthyléther à -10°C.

On rappelle que la molécule de lactide comprend 2 mole de lactate. Le rapport du nombre de motifs lactate au nombre de motifs oxyéthylène dans le mélange de départ est 30 donc égal à deux.

Après dégazage sous vide du mélange réactionnel, on le chauffe à 140°C sous atmosphère d'argon jusqu'à ce

que le mélange soit entièrement sous forme liquide. On réalise ensuite un vide de  $10^{-2}$  mm de mercure, on scelle le ballon et on le place dans un four à 140°C pendant 7 jours. Le ballon est ensuite ramené à la température ambiante, et 5 son contenu est solubilisé dans l'acétone, puis soumis à une précipitation dans l'éthanol.

Le produit obtenu est ensuite séché sous pression réduite.

Le copolymère est analysé par RMN  $^1\text{H}$ . En 10 faisant le rapport de l'intégrale des protons  $\text{CH}$  des blocs PLA à 5,3-5,1 ppm à l'intégrale des protons ( $\text{O-CH}_2-\text{CH}_2$ ) du bloc POE à 3,5 ppm, on a déterminé que le rapport molaire LA/OE dans le copolymère est égal à 2,1. On en déduit que la masse moléculaire du copolymère est de 8 800 environ.

15

1.2. De façon analogue à celle décrite à l'exemple 1.1, on a préparé au départ de PEG 2000 et de D,L-lactide (1,5 mole pour 1 mole (en motifs répétitifs oxyéthylène) de PEG) et de poudre de zinc (0,05 % du poids total des 20 réactifs), un copolymère caractérisé par RMN  $^1\text{H}$  par un rapport molaire LA/OE égal à 2,3, d'où une masse moléculaire de 9400 environ.

1.3. De façon analogue, au départ d'un mélange de 25 1,5 mole de D,L-lactide et de 1 mole (en motifs répétitifs oxyéthylène) de PEG 2000, en présence d'hydrure de calcium (Janssen, Belgique), à raison de deux moles d'hydrure par mole de PEG, on obtient un copolymère caractérisé par un rapport LA/OE égal à 3,2, d'où une masse molaire de 12 300 30 environ.

1.4. De façon analogue à celle décrite à l'exemple 1.3., on a préparé, au départ d'un mélange équimolaire de lactide et de PEG 2000, en présence d'hydrure de calcium, un copolymère ayant une masse moléculaire de 8 000 environ.

5 Le mélange équimolaire mentionné ci-dessus fait référence, pour le PEG, à des moles de motifs répétitifs oxyéthylène.

10 1.5. De façon analogue à celle décrite à l'exemple 1.1., on a préparé, au départ de PEG 1000, de D,L-lactide, à raison d'une mole pour 1 mole (en motifs répétitifs oxyéthylène) de PEG et de poudre de zinc, un copolymère caractérisé en RMN <sup>1</sup>H par un rapport LA/OE égal à 3,4, d'où une masse molaire de 6400 environ.

15

Exemple 2 : Obtention d'hydrogels

20 On dissout des échantillons de 200 mg de copolymère dans 0,4 cm<sup>3</sup> d'acétone (ou dans 0,8 cm<sup>3</sup> d'acétone) et on ajoute progressivement 4 cm<sup>3</sup> d'eau. Les copolymères utilisés sont ceux des exemples 1.1. à 1.5. Dans chaque cas, on obtient un gel mou (hydrogel comportant une forte proportion d'eau).

25 En éliminant l'eau en excès et en la remplaçant par une nouvelle quantité d'eau, à plusieurs reprises, on élimine l'acétone.

On peut également éliminer l'acétone par dialyse ou par évaporation lente.

30 L'eau contenue dans l'hydrogel peut être éliminée par lyophilisation. Le lyophilisat, mis en présence d'eau, absorbe rapidement un poids d'eau au moins égal au poids de

copolymère qu'il contient, et on obtient un hydrogel mou gonflé d'eau.

5    Exemple 3 : Incorporation d'une substance hydrophobe dans un hydrogel

Dans 2 cm<sup>3</sup> d'acétone, on dissout 1 g de copolymère de l'exemple 1.3 et 5 mg de colorant commercial Yellow OB.

10    Il s'agit d'un colorant très hydrophobe, insoluble dans l'eau. On ajoute progressivement de l'eau distillée (4 cm<sup>3</sup>). On obtient un gel occupant la presque totalité du volume de la solution acétonique de départ.

15    Le gel est coloré de façon homogène, sans apparition de cristaux de colorant.

En opérant de façon analogue, mais en l'absence de copolymère, le colorant cristallise lors de l'addition d'eau.

En lavant le gel à l'eau, comme décrit précédemment, pour éliminer l'acétone, le colorant reste présent dans le 20 gel.

De façon analogue, on a préparé des hydrogels dans lesquels est incorporée de la progestérone. Même après plusieurs lavages du gel avec de l'eau, la plus grande partie de la progestérone reste piégée dans le gel. Lors des lavages 25 du gel à l'eau, il n'y a pas formation d'un précipité de progestérone, contrairement à ce que l'on observe lorsque l'on ajoute de l'eau à une solution de progestérone dans l'acétone. Administré par injection sous-cutanée, le gel constitue un implant mou biorésorbable qui libère progressivement 30 la progestérone.

Exemple 4 : Incorporation d'une protéine

De façon analogue à celle décrite précédemment, on dissout 1 g de copolymère de l'exemple 1.3 dans 2 cm<sup>3</sup> 5 d'acétone et on ajoute progressivement de l'eau contenant en solution 10 g/l d'albumine bovine.

On lave 4 fois à l'eau le gel obtenu.

On ajoute un volume de sérum physiologique égal au volume du gel.

10 On recherche la protéine dans le liquide en excès (par analyses UV effectuées toutes les 2 minutes). La protéine ne devient détectable qu'au bout de 6 minutes et la libération se prolonge pendant plusieurs heures.

15 De façon analogue, on a incorporé, dans des hydrogels selon l'invention, d'autres protéines (notamment des immunoglobulines) et des conjugués protéine-antigènes dont la protéine était l'anatoxine téstanique et les antigènes étaient soit des polyosides ou fragments de polyosides de 20 *Streptococcus pneumoniae*, soit des polyosides ou fragments de polyosides de *Salmonella typhi*.

REVENDICATIONS

1. Hydrogel à base de copolymère triséquencé et d'eau, caractérisé par le fait qu'il se présente sous la 5 forme d'un hydrogel mou contenant une quantité d'eau au moins égale, en poids, à celle dudit copolymère triséquencé, et par le fait que ledit copolymère répond à la formule (I) :



10 dans laquelle G est un bloc polymère linéaire hydrophile non hydroxylé contenant p motifs répétitifs, p étant un nombre pouvant varier de 10 à 150,

X et Y représentent chacun un bloc polyester contenant respectivement m et n motifs répétitifs,

15 le rapport  $(m + n)/p$  étant suffisamment élevé pour que ledit copolymère soit insoluble dans l'eau, et ledit rapport  $(m + n)/p$  étant choisi tel que l'addition d'eau à une solution du copolymère dans un solvant organique miscible à l'eau provoque la formation d'un gel mou capable de retenir une quantité d'eau au moins égale au poids dudit copolymère.

20 2. Hydrogel selon la revendication 1, caractérisé par le fait que p est un nombre pouvant varier de 10 à 120, et en particulier de 15 à 100.

25 3. Hydrogel selon la revendication 1 ou 2, caractérisé par le fait que ledit rapport  $(m + n)/p$  est choisi pour que ledit gel puisse retenir une quantité d'eau au moins égale à deux fois le poids de copolymère qu'il contient.

30 4. Hydrogel selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé par le fait que ledit rapport  $(m + n)/p$  est un nombre compris entre 1 et 5 environ.

5. Hydrogel selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé par le fait que X et Y représentent : (i) des polymères qui dérivent des monomères choisis parmi l'acide lactique, l'acide glycolique, les 5 monoesters d'acide malique, les lactides, le glycolide, la para-dioxanone, (ii) des copolymères que forment ces monomères entre eux, ou (iii) des polymères obtenus par polycondensation de diacides et de diols.

10. Hydrogel selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé par le fait que le bloc polymère représenté par G est choisi parmi les suivants : poly(éthylèneglycol), poly(vinylpyrrolidone) et polyacrylamide.

15. Hydrogel selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé par le fait qu'il renferme une substance hydrophobe.

20. Hydrogel selon la revendication 7, caractérisé par le fait que ladite substance hydrophobe est choisie parmi des médicaments, des substances colorantes, des substances aromatiques et des insecticides.

25. Hydrogel selon l'une quelconque des revendications 7 et 8, caractérisé par le fait que ladite substance hydrophobe est choisie parmi des hormones, des antibiotiques, des antiparasitaires, des agents anticancéreux, des anesthésiques, des sédatifs et des peptides.

10. Hydrogel selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé par le fait qu'il renferme une macromolécule hydrosoluble.

30. Lyophilisat obtenu par lyophilisation d'un hydrogel tel que défini dans l'une quelconque des revendications 1 à 6.

12. Lyophilisat obtenu par lyophilisation d'un hydrogel tel que défini dans l'une quelconque des revendications 7 à 10.

13. Composition caractérisée par le fait qu'elle 5 comprend comme support un hydrogel tel que défini dans l'une quelconque des revendications 1 à 6 ou un lyophilisat tel que défini dans la revendication 11.

14. Composition caractérisée par le fait qu'elle comprend un hydrogel tel que défini dans l'une quelconque des revendications 7 à 10 ou un lyophilisat tel que défini dans la revendication 12. 10

15. Composition pharmaceutique, caractérisée par le fait qu'elle comprend un hydrogel tel que défini dans l'une quelconque des revendications 1 à 7 ou un lyophilisat tel que défini dans la revendication 11 ou 12. 15

16. Composition selon la revendication 15, caractérisée par le fait qu'elle contient en outre un médicament comprenant une macromolécule hydrosoluble.

17. Composition selon la revendication 15 ou 16, 20 caractérisée par le fait que ladite composition est suffisamment déformable pour pouvoir transiter à travers une aiguille creuse ayant un diamètre interne de 2 mm, ou à travers une aiguille creuse ayant un diamètre interne de 1 mm.

25 18. Procédé de préparation d'un hydrogel ou d'un lyophilisat tel que défini dans l'une quelconque des revendications 1 à 12, caractérisé par le fait que l'on prépare une solution d'un copolymère X-G-Y, tel que défini dans l'une quelconque des revendications 1 à 6, dans un solvant organique miscible à l'eau, puis on met en contact cette solution avec une quantité suffisante d'eau pour former 30 un hydrogel mou.

19. Procédé selon la revendication 18, caractérisé par le fait qu'en outre on lave ledit hydrogel à l'eau et/ou le soumet à une dialyse contre de l'eau et/ou le lyophilise.

20. Procédé pour le piégeage d'une substance hydrophobe dans un hydrogel, caractérisé par le fait que l'on prépare une solution d'une substance hydrophobe et d'un polymère triséquencé tel que défini dans l'une quelconque des revendications 1 à 6, dans un solvant organique miscible à l'eau qui est un solvant pour ladite substance hydrophobe et pour le copolymère, puis on met en contact ladite solution avec de l'eau pour obtenir un hydrogel mou qui est capable de retenir ladite substance hydrophobe.

21. Procédé pour le piégeage d'une macromolécule hydrophile dans un hydrogel, caractérisé par le fait que l'on prépare une solution contenant un copolymère triséquencé tel que défini dans l'une quelconque des revendications 1 à 6, dans un solvant organique miscible à l'eau, puis on met en contact ladite solution avec une solution aqueuse de ladite macromolécule, pour obtenir un hydrogel mou capable de retenir ladite macromolécule.

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No  
PCT/FR 96/01901

**A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER**  
IPC 6 C08G63/66 C08G63/00 A61K47/34

**A** According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC  
**FIELDS SEARCHED**

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)  
IPC 6 C08G A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	EP 0 092 918 A (ICI) 2 November 1983 cited in the application see the whole document	1-11, 13-21 12
Y	PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 011, no. 365 (C-460), 27 November 1987 & JP 62 135504 A (MITSUI TOATSU CHEM INC), 18 June 1987, see abstract	12
A	WO 90 03768 A (SOUTHERN RESEARCH INSTITUTE) 19 April 1990 see claims 1-45	1-21

Further documents are listed in the continuation of box C.

Patent family members are listed in annex.

\* Special categories of cited documents :

- 'A' document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- 'E' earlier document but published on or after the international filing date
- 'L' document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- 'O' document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- 'P' document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- 'T' later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- 'X' document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- 'Y' document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- '&' document member of the same patent family

2

Date of the actual completion of the international search

Date of mailing of the international search report

1 April 1997

09.04.97

Name and mailing address of the ISA

Authorized officer

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel: (+ 31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+ 31-70) 340-3016

Decocker, L

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/FR 96/01901

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP 92918 A	02-11-83	AU 566010 B AU 1328083 A CA 1246265 A DE 3378250 A JP 4210928 A JP 7088312 B JP 1823155 C JP 5017245 B JP 58191714 A US 4526938 A US 4942035 A	08-10-87 27-10-83 06-12-88 24-11-88 03-08-92 27-09-95 10-02-94 08-03-93 09-11-83 02-07-85 17-07-90
WO 9003768 A	19-04-90	US 4938763 A AU 4501789 A AU 5067793 A EP 0436667 A IL 91850 A IL 107393 A JP 4503163 T US 5278201 A US 5340849 A US 5278202 A	03-07-90 01-05-90 17-02-94 17-07-91 30-03-95 29-06-95 11-06-92 11-01-94 23-08-94 11-01-94

# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Recherche Internationale No  
PCT/FR 96/01901

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE  
CIB 6 C08G63/66 C08G63/00 A61K47/34

Seul la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)  
CIB 6 C08G A61K

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si cela est réalisable, termes de recherche utilisés)

## C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie *	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	EP 0 092 918 A (ICI) 2 Novembre 1983 cité dans la demande voir le document en entier ---	1-11, 13-21
Y	PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 011, no. 365 (C-460), 27 Novembre 1987 & JP 62 135504 A (MITSUI TOATSU CHEM INC), 18 Juin 1987, voir abrégé ---	12
A	WO 90 03768 A (SOUTHERN RESEARCH INSTITUTE) 19 Avril 1990 voir revendications 1-45 -----	12 1-21

Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

### Catégories spéciales de documents cités:

- \*A\* document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent
- \*E\* document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date
- \*L\* document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)
- \*O\* document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens
- \*P\* document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

- \*T\* document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention
- \*X\* document particulièrement pertinent, l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément
- \*Y\* document particulièrement pertinent, l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier
- \*&\* document qui fait partie de la même famille de brevets

2

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

1 Avril 1997

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

09.04.97

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale

Office Europeen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+ 31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+ 31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Decocker, L

# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Document de Internationale No

PLI/FR 96/01901

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
EP 92918 A	02-11-83	AU 566010 B AU 1328083 A CA 1246265 A DE 3378250 A JP 4210928 A JP 7088312 B JP 1823155 C JP 5017245 B JP 58191714 A US 4526938 A US 4942035 A	08-10-87 27-10-83 06-12-88 24-11-88 03-08-92 27-09-95 10-02-94 08-03-93 09-11-83 02-07-85 17-07-90
WO 9003768 A	19-04-90	US 4938763 A AU 4501789 A AU 5067793 A EP 0436667 A IL 91850 A IL 107393 A JP 4503163 T US 5278201 A US 5340849 A US 5278202 A	03-07-90 01-05-90 17-02-94 17-07-91 30-03-95 29-06-95 11-06-92 11-01-94 23-08-94 11-01-94